

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 781 374

(21) N° d'enregistrement national : 98 09307

(51) Int Cl⁷ : A 61 K 31/715, A 23 L 3/3562, A 61 P 17/00, 9/00, 35/
00, 31/00, 7/00, 13/00, 43/00

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 21.07.98.

(30) Priorité :

(71) Demandeur(s) : BARRITAULT DENIS — FR et
CARUELLE JEAN PIERRE — FR.

(43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 28.01.00 Bulletin 00/04.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : Se reporter à la fin du
présent fascicule

(60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

(72) Inventeur(s) : BARRITAULT DENIS et CARUELLE
JEAN PIERRE.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : BREESE MAJEROWICZ.

(54) COMPOSITION ANTIOXYDANTE COMPRENANT AU MOINS UN POLYMERÉ OU BIOPOLYMERÉ SEUL OU
ASSOCIE A LA SOD.

(57) La présente invention concerne une composition anti-
oxydante caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un
polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP, éven-
tuellement en association avec de la SOD, avantageuse-
ment associé (s) dans ladite composition avec un véhicule
pharmaceutiquement acceptable.

La composition de l'invention est avantageusement uti-
lisable dans le traitement et/ ou la prévention des lésions et
souffrances induites par un stress oxydatif et les agents
oxydants.

FR 2 781 374 - A1



COMPOSITION ANTIOXYDANTE COMPRENANT AU MOINS
UN POLYMIÈRE OU BIOPOLYMIÈRE SEUL OU ASSOCIÉ À LA SOD.

5

La présente invention concerne de nouvelles compositions antioxydantes comprenant au moins un polymère ou biopolymère, éventuellement associé à de la SOD. Ces composition sont utiles tant dans les domaines thérapeutique et cosmétique que agroalimentaire.

10

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation de polymères ou de biopolymères de la famille des HBGFPP comme antioxydant, utile plus particulièrement pour la préparation de :

15

- médicaments destinés notamment au traitement et/ou à la prévention des lésions et souffrances induites par un stress oxydatif ou les agents oxydants,

- de compositions destinées à la préservation des aliments.

20

On connaît dans l'art antérieur des dérivés de dextrane carboxyméthyl-benzylamide-sulfonate, désignés CMDBS, dont certains miment les propriétés de l'héparine et peuvent être utilisés en tant que produits de substitution du plasma grâce à leurs propriétés anti-coagulante et anti-complémentaire. D'autres de ces dérivés miment une propriété différente de l'héparine qui consiste en une stabilisation, une protection et une potentialisation de l'activité biologique *in vitro* des facteurs de croissance de la famille des FGF (Tardieu et coll., Journal of Cellular Physiology, 1992, 150, Pages 194 à 203). Ces dérivés, leur préparation et leur utilisation sont décrits dans le brevet français No. 2 461 724 ainsi que dans le brevet US No. 4 740 594. Ils sont obtenus par substitution par

25

30

35

des résidus carboxyméthyle, carboxyméthyle - benzylamide et carboxyméthyle - benzylamide - sulfonate.

Par ailleurs, le brevet français No. 2 644 066 décrit l'utilisation de certains CMDBS, seuls ou associés aux FGFs, pour la cicatrisation de la peau et de la cornée.

Un autre biopolymère, le dextrane sulfate, a également été proposé dans le brevet japonais No. 13890 en association avec des FGF, comme stabilisateur et protecteur

Plus récemment, il a été proposé dans les brevets français No. 2 718 023, No. 2 718 025 et No. 2 718 023 d'utiliser des polymères capables de protéger, stabiliser et potentialiser les facteurs de croissance à affinité pour l'héparine, tels les facteurs de croissance des fibroblastes ou FGF et du Transforming Growth Factor bêta (TGF β), comme médicament pour le traitement des lésions respectivement du tractus digestif, du système nerveux, des tissus musculaires. Pour illustrer cet effet protecteur des CMDBS, ces brevets rapportent les résultats de la digestion protéolytique par de la trypsine du FGF1, du FGF2 ou du TGF β . Ces propriétés de protection, de stabilisation et de potentialisation des facteurs de croissance à affinité pour l'héparine ont permis de caractériser une nouvelle classe de polymères, désignés HBGFPP pour "Heparin-Binding Growth Factor Protector and Potentiator", présentant une activité cicatrisante et réparatrice des tissus musculaires, nerveux et du tractus digestif et dépourvus, aux doses utilisées, d'activités anti-coagulantes. Les polymères ou biopolymères HBGFPP sont définis par les propriétés suivantes :

- ils protègent spécifiquement les facteurs de croissance des familles FGF et TGF bêta de la dégradation trypsique,

- ils n'inhibent pas de manière significative la coagulation.

Outre, les applications des HBGFPP ci-dessus, le brevet français No. 2 718 024 propose 5 l'utilisation de ces polymères comme médicament pour le traitement des inflammations. Cette activité anti-inflammatoire est illustrée par l'activité d'inhibition *in vitro* d'enzymes protéolytiques impliquées dans la réaction inflammatoire comme l'élastase leucocytaire ou 10 la plasmine et *in vivo* par des études histologiques démontrant une réaction cellulaire inflammatoire réduite dans les tissus traités par des dérivés de dextrane CMDBS.

Les applications des HBGFPP et plus 15 particulièrement du CMDBS proposées dans les brevets cités ci-dessus, dont l'enseignement est incorporé à la présente demande par référence, sont donc limitées à la réparation et à la cicatrisation de certains tissus seulement.

20

Les Inventeurs ont maintenant mis en évidence de nouvelles propriétés des HBGFPP comme agents à la fois protecteurs mais aussi potentialisateurs de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD).

25

En conséquence, l'invention concerne des compositions anti-oxydantes comprenant au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP comme le CMDBS, et éventuellement de la SOD, avantageusement associé(s) dans la dite composition à un véhicule pharmaceutiquement acceptable. Les compositions de 30 l'invention trouvent des applications tant chez l'homme que l'animal dans les domaines médicaux, vétérinaires, cosmétologiques, alimentaires.

35

En effet, les travaux de recherche réalisés dans le cadre de la présente invention ont permis de mettre en évidence les propriétés remarquables des

HBGFPP et notamment des CMDBS, comme agents de protection contre les effets toxiques des agents oxydants, plus particulièrement des ions oxydes et super oxydes, notamment lorsque la présence de ces ions est augmentée dans des cas de stress oxydatif, d'ischémie, ou sous l'action de radiations ionisantes et trouvant donc des applications dans les domaines thérapeutique et cosmétique, notamment dans la lutte contre le vieillissement, que comme agents de préservation d'aliments ou de nutriments contenant naturellement des antioxydants ou auxquels ont été ajoutés des agents anti-oxydants comme de la SOD.

On entend par SOD, dans le cadre de la présente invention, tant la SOD animale ou végétale, purifiée à partir d'une source naturelle ou produite par synthèse chimique ou par génie génétique.

L'invention concerne donc des compositions pharmaceutiques caractérisées en ce qu'elles comprennent au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP, utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des lésions et souffrances induites par un stress oxydatif et les agents oxydants.

D'une manière inattendue, les inventeurs ont découvert que les HBGFPP, et notamment les CMDBS, présentaient la capacité de protéger, stabiliser et potentialiser les activités enzymatiques de la SOD. Cet enzyme peut donc être protégée soit *in situ* et *in vivo* soit *ex vivo*. Les HBGFPP et plus particulièrement le CMDBS peuvent donc être utilisés seuls comme agents protecteurs de la SOD endogène et à ce titre protéger celle-ci dans toutes ses fonctions ou en association avec la SOD dans les indications connues de l'homme de

l'art dans le domaine thérapeutique ou cosmétique. Ils agissent, du fait de cette propriété, également comme préservateurs d'aliments ou de nutriments.

5

Les HBGFPP agissent comme des agents protecteurs et réparateurs des effets délétères associés au stress tissulaire. Ainsi, lors d'une ischémie quelqu'en soit l'origine, ou lors de la réponse à une agression cellulaire ou tissulaire par exemple sous l'effet de rayonnement ionisants ou en réponse à une invasion par un agent pathogène, de quelque nature qu'il soit viral, microbien, parasitaire ou même provoquant des pathologies de type ESST (Encéphalopathies spongiformes subaigües transmissibles) comme celle provoquée par le prion, ou encore lors de rupture vasculaire provoquant des hémorragies dont les effets sont nocifs en provoquant des pertes fonctionnelles, par exemple dans le cas d'hémorragies des vaisseaux rétiniens qui peuvent conduire à la cécité ou dans le cerveau à des pertes de fonctions motrices ou autres.

25

Les qualités protectrices de la SOD endogène ou apporté d'une manière exogène sont renforcées par les CMDBS. Ainsi, les CMDBS peuvent être administrés dans tous les cas où l'effet bénéfique de la SOD a été décrit. Ainsi, de façon non limitative, le HBGFPP sera ajouté ou utilisé avec bénéfice :

30

- Dans les fluides biologiques comme le sang et ses constituants cellulaires, par exemple en hémodialyse.

35

- Pour la préservation des organes, dans le cas de greffes ou de traitements *ex vivo* ou en reperfusion (Razak et col., *Crosslinked hemoglobin-superoxide dismutase-catalase scavenges free radicals in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion*

injury, Artif. cells Blood substi immobil Biotechnol 1997, 25, 181-192). L'addition de CMDBS à des solutions de conservation d'organes et administrés en reperfusion permet une préservation de ces organes.

5 - Pour le traitement de maladies dans lesquelles la SOD en apport exogène a été montrée comme efficace, l'effet thérapeutique résultant d'une action protectrice de la SOD endogène peut alors agir plus efficacement en présence de CMDBS. Les CMDBS limitent ou évitent des apports exogènes en agissant indirectement comme agents anti-oxidants. Dans ces effets thérapeutiques, on peut également citer :

10 15 - Une protection contre les agressions la souffrance ou la dégénérescence des tissus nerveux, par exemple dans le stress (Shahen et col., *Effects of various stressors on the level of lipid peroxide antioxidants and Na⁺, K⁺ - ATPases activity in brain*, Experentia, 1996, 52, 336-339) ou encore dans la dégénérescence neuronale et les maladies 20 neurodégénératives associés aux accidents vasculaires, traumatiques, ou à des pathologies comme le Parkinson, dans lesquelles les activités de protection de la SOD endogène permettent une lutte plus efficace 25 (Bostantjopoulos et col., *Super oxide dismutase activity in early and advanced Parkinson's Disease*, Funct. Neurol., 1997, 12, 63-68).

- Le vieillissement par un effet anti-apoptose (Fernandez Novoa et coll., Methods Find. Exper. Clin. Pharmacol., 1997, 9, 99-106).

30 35 - Une protection antioxydante dans les ischémies des membres. Dans cette application le CMDBS peut être administré seul. La protection assurée par un traitement avec la SOD seule serait bien évidemment renforcé par l'administration de CMDBS. Il apparaît au vue des propriétés décrites que les CMDBS seraient bénéfiques administrés seuls et/ou en association avec

la SOD dans les nombreuses applications décrivant les effets de la SOD (D'Agnillo et Chang, *Reduction of hydroxyl radical generation in a rat hindlimb model of ischemia - reperfusion injury using cross linked hemoglobin - superoxide dismutase - catalase*, Artif. Cells Blood Substiti Immobil Biotechnol, 1997, 25, 163-80).

- L'administration de CMDBS seuls ou en association avec de la SOD sera bénéfique contre les souffrances du cœur, du cerveau, du système nerveux central comme dans le cas des lésions de la moelle épinière (Nakauchi et col., *Effects of lecithinized super oxide dismutase on rat spinal cord injury*, J. Neurotrauma, 1996, 13, 573-82) ou encore de la rétine.

- Dans le traitement des insuffisances respiratoires associées à la fatigue du diaphragme (Supinski et col., *Effect of free radical scavengers on diaphragmatic fatigue*, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1997, 155, 622). Ceci pourrait-être notamment intéressant chez les malades atteints de dystrophie musculaires.

- Tous les tissus notamment ceux pour lesquels le taux de SOD active endogène est plus élevé (cellules endothéliales vasculaires, dans le foie, le rein, le muscle cardiac et squelettique, le pancréas, les cellules épithéliales des muqueuses de l'intestin, du colon, de la trachée, de l'oesophage, des tissus conjonctifs, du cartilage).

- Le traitement des effets délétères associés au diabète comme dans les rétinopathies diabétiques (Szabo et col., *Direct measurement of free radicals in ischemic/reperfused diabetic rat retina*, Clin. Neurosci., 1997, 4, 240-5).

- Le traitement des lépreux (*Serum, zinc, copper, magnesium, proteins and super oxide dismutase in*

leprosy patients on multidrug therapy-a follow up study,
Indian J. Lepr. 1996, 68, 325-33).

5 - Dans le traitement du choc endotoxique (*Hepatic response to the oxydative stress induced by E. Coli endotoxin*, Mol. Cell. Biochem. 1996, 159, 115-121).

10 - Dans le traitement des lésions induites par le stress causé par la présence d'agents pathogènes de toute nature, comme notamment les Virus dont le virus du sida ou les agents induisant des pathologies ESTT tels le prion.

15 - Dans le traitement préventif et/ou curatif contre les irradiations. Ainsi les effets adverses de la radiothérapie peuvent être réduits par un traitement préventif et/ou curatif de CMDBS. L'utilisation des CMDBS permet de réduire la dose de radiothérapie dans les conditions de traitement des cancers (*Prevention of radioinduced cystisi by orgotein; a random ranomized study*, Anticancer Res., 1996, 16, 2025-8) ou de prévenir 20 les effets clastogéniques induits par l'irradiation. Les effets d'hyperthermie associés à la radiothérapie peuvent être diminués par l'utilisation de CMDBS de la même manière que la SOD (Kandasamy et col., *Involvement of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in 25 attenuation of radiation-induced hyperthermia by interleukin 1 alpha in rats*, Brain res., 1993, 606, 106-10).

30 - Dans la protection contre les effets induits par les rayons ultraviolets, par exemple sur la rétine. (Oguni et coll., *Chronical retinal effects by ultraviolet irradiation with special référence to superoxide dismutase*, Histol. Histopathol, 1996, 11, 695-702), et le traitement des Uvéites (Koch et coll., *Effects of different antioxidants on lens-induced 35 uveitis*, Ger. J. Ophthalmol., 1996 5; 1185-8). Le traitement par le CMDBS peut être envisagé seul ou en

association avec la SOD et son utilisation peut être aussi bien médicale que cosmétologique.

5 - Dans le traitement de l'hypertension. En effet, l'activité de la SOD endogène est diminuée chez les sujets hypertendus (Jun Ke yan et Catalano, *Increase superoxide anion production in humans, a possible mechanism for the pathogenesis of hypertension*, J. Hum. Hypertens., 1996, 10, 305-309). Un apport de CMDBS aura pour effet d'augmenter cette activité et de réduire 10 l'hypertension.

- Dans le traitement des maladies inflammatoires comme l'arthrite.

15 L'invention concerne donc l'utilisation des HBGFPP, et plus particulièrement des CMDBS, seuls ou associés à de la SOD pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou à la prévention des lésions, 20 souffrances, affections et maladies induites par un stress oxydatif et les agents oxydants et notamment celles citées ci-dessus.

25 L'invention se rapporte donc à toute composition pharmaceutique dans laquelle les HBGFPP seuls ou en association avec la SOD, sont associés à un véhicule pharmaceutique sous une forme permettant l'administration per os, per cutanée, sous cutanée, topique, intramusculaire, intraveineuse ou intra artérielle ou dans tous les compartiments liquidiens de l'organisme. Les travaux menés dans le cadre de la 30 présente invention ont permis de mettre en évidence que le CMDBS agit plus particulièrement dans des fenêtres de doses en dehors desquelles des effets biologiques toujours satisfaisants ne sont pas obtenus. Selon les voies d'administration et le type de lésion, les doses efficaces optimales sont celles définies ci-dessous.

Avantageusement, de manière à recouvrir toute la surface d'une plaie ou à remplir le volume d'une lésion tissulaire, les compositions pharmaceutiques de l'invention sont dosées de façon à permettre une administration de 0,001 à 1 milligramme de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par centimètre carré ou de 0,005 à 1 milligramme de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par centimètre cube de tissu à traiter. Ainsi, les compositions de l'invention contiennent de préférence entre 0,01 et 10 milligramme de HBGFPP par millilitre de solution physiologique de dissolution.

Pour une administration par voie systémique (veineuse, artérielle), par voie intra-péritonéale, intra oculaire, dans le liquide céphalorachidien, dans le liquide intracochléaire ou dans tous fluides péri ou intra tissulaires, les compositions de l'invention sont dosées de façon à permettre une administration de 0,1 et 100 milligrammes de HBGFPP par kilogramme de poids d'homme ou d'animal à traiter.

Pour une administration par voie intramusculaire, les compositions de l'invention sont dosées de façon à permettre une administration comprises entre 0,2 et 500 milligrammes de HBGFPP par kilogramme de poids d'homme ou d'animal à traiter, et de préférence entre 1 et 50 mg par kg.

Pour une administration per os, les compositions de l'invention sont dosées de façon à permettre une administration comprise entre 1 et 5000 milligrammes de HBGFPP par kilogramme de poids d'homme ou d'animal à traiter, et de préférence entre 10 et 500 mg par kg.

Les HBGFPP sont utiles également pour la conservation des organes ou tissus ainsi que dans le

maintien des fluides biologiques ce qui permet d'envisager les applications suivantes :

- Dans les fluides biologiques comme le sang et ses constituants cellulaires, par exemple en hémodialyse.

- Pour la préservation des organes, dans le cas de greffes ou de traitements *ex vivo* ou en reperfusion (Razak et col., *Crosslinked hemoglobin-superoxide dismutase-catalase scavenges free radicals in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury*, Artif. cells Blood substi immobil. Biotechnol. 1997, 25, 181-192). L'addition de CMDBS à des solutions de conservation d'organes et administrés en reperfusion permet une préservation de ces organes.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront dans les exemples qui suivent concernant d'une part la préparation de CMDBS, et d'autre part leurs propriétés anti-oxydantes et les applications qui en découlent.

Exemple 1 : Préparation de CMDBS.

Les CMDBS utilisés dans les exemples donnés ci-après ont été préparés et sélectionnés comme décrits dans les brevets de l'art antérieur. A titre de rappel leur formule générale est présentée figure 1. Deux polymères particuliers ont été utilisés dans les exemples présentés. Le CMDBS 192 et le CMDBS 282. Ces deux CMDBS se définissent respectivement par leur taux de substitutions en motifs carboxyméthyle (CM), carboxyméthyle-benzylamide (CMB) et carboxyméthyle-benzylamide-sulfonate (CMBS) présentés dans le tableau I ci dessous.

Tableau I

Polymères CMDBS	Motifs CM carboxyméthyle	Motifs CMB benzylamide	Motifs CMBS sulfonate
CMDBS 192	110	2,5	38
CMDBS 282	90	0	36,5

Ils appartiennent à la famille des HBGFPP
 5 en ce qu'ils ont été sélectionnés sur des critères *in vitro* pour avoir une activité anticoagulante faible qui est respectivement de 2 et 4 UI/mg, pour stabiliser et potentialiser l'activité mitogène du FGF2 sur des cellules 3T3, pour protéger le FGF1 et le TGF β d'une
 10 attaque par la trypsine, pour inhiber l'activité de l'élastase leucocytaire et de la plasmine et sur des critères *in vivo* en stimulant la régénération du muscle squelettique dans le modèle présenté dans le brevet français n° 2 718 026

15

Exemple 2 : protection et potentialisation des activités enzymatiques impliquées dans la lutte contre le stress oxydatif comme par exemple la super oxyde dismutase ou SOD.

20

La production d'ions O₂⁻ et celle de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) représentent des radicaux qui exercent des effets cytotoxiques particulièrement destructeurs. Les SOD ou super oxydismutase sont des enzymes engagées dans la détoxicification de ces radicaux.
 25 Ce sont des agents qui préservent l'organisme du stress oxydatif.

Les CMDBS présentent plusieurs types d'activité vis à vis de la SOD :

30

- Ils exercent sur l'activité catalytique de la SOD un effet potentialisateur à PH neutre et un effet de protection et de potentialisation à des pH acide et basique (figure 2).

- Ils présentent la propriété de protéger les SOD vis à vis des dégradations enzymatiques comme par exemple la trypsine ou vis à vis de traitements thermiques (figure 3).

5

- Sur des modèles de cultures de monocytes activés, ils stimulent les activités catalytique des SOD endogènes et permettent de diminuer la production des ions superoxydes (figures 4 et 5).

10

Dans tous les cas, les dosages de l'activité SOD sont réalisés selon la technique de Pick, (Freund M et Pick E, The mechanism of action of lymphokines. IX. The enzymatic basis of hydrogen peroxide production by lymphokine-activated macrophages. J Immunol 1986 15;137(4):1312-1318). Cette technique repose sur le dosage des ions O_2^- par réduction du cytochrome c. De la MnSOD (Sigma ref. S 8151) à 30 U/millilitre est mise en solution en présence des CMDBS à la concentration de 10 microgrammes/millilitre. Ces mélanges subissent différents traitements.

15

L'activité SOD est évaluée en présence de différentes concentrations de polymères dans des conditions réactionnelles normales.

20

Soit, les mélanges de SOD et de polymères sont soumis à température ambiante à l'action de la trypsine soit ils sont soumis à un traitement thermique à 60° C pendant 30 minutes. L'activité catalytique résiduelle de la SOD de ces mélanges est alors évaluée par les techniques enzymatiques classiques ou sur système cellulaire.

25

Les échantillons ainsi traités sont incubés dans une suspension de monocytes ($2,5 \cdot 10^6$ cellules/millilitre) stimulés par 200 nM de PMA. Cette condition induit la production d'anions superoxydes par ces monocytes activés en macrophages. La stimulation par le PMA induit une augmentation de la production d'ions

30

35

superoxyde normalement produits à un niveau basal en l'absence d'activation. L'ajonction de MnSOD active utilisée comme contrôle positif, diminue la quantité d'ions superoxydes produits.

5 Dans ces conditions, plus la production d'ions superoxydes sera faible, plus l'activité catalytique résiduelle de la SOD contenue dans les mélanges sera élevée. Ces tests permettent donc d'apprecier les effets protecteurs et potentialisateurs
10 des polymères sur l'activité SOD exogène comme endogène.

La figure 2 illustre les effets potentialisateurs des CMDBS sur l'activité catalytique de la SOD *in vitro* aux pH 3, 7 et 11. La figure 3
15 illustre les effets protecteurs des CMDBS sur la SOD soumise à une attaque par la trypsine ou après un choc thermique. Les figures 4 et 5 illustrent les effets potentialisateurs des deux polymères étudiés sur l'activité SOD et sur la production d'ions superoxydes
20 par des macrophages activés.

Ces polymères exercent donc des effets potentialisateurs et protecteurs aussi bien dans des systèmes acellulaires que cellulaires. L'ajonction des
25 différents polymères module donc l'activité catalytique de SOD ajoutée de façon exogène comme de SOD produite de façon endogène par les cellules.

REVENDICATIONS

1) Composition anti-oxydante caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP, avantageusement associé dans ladite composition avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

5 2) Composition selon la revendication 1,
10 caractérisée en ce qu'elle comprend en outre de la SOD.

15 3) Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des lésions et souffrances induites par un stress oxydatif et les agents oxydants.

20 4) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des effets délétères associés au stress tissulaire.

25 5) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou 30 la prévention des ischémies.

35 6) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des effets de rayonnement ionisants.

7) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention d'une invasion par un agent pathogène tel qu'un agent viral, microbien, parasitaire, prion.

8) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des conséquences des hémorragies.

9) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD en hémodialyse.

10) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD pour la conservation des tissus et organes et prothèses.

25 11) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des agressions, de la souffrance ou de la 30 dégénérescence des tissus nerveux.

35 12) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention du vieillissement.

5 13) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des souffrances du cœur, du cerveau, du système nerveux central.

10 14) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des lésions de la moelle épinière ou de la rétine.

15 15) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des insuffisances respiratoires associées 20 à la fatigue du diaphragme, comme la dystrophie musculaires.

25 16) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des effets délétères associés au diabète comme dans les rétinopathies diabétiques.

30 17) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention de la lèpre.

5 18) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention du choc endotoxique.

10 19) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des lésions provoquées par une radiothérapie ou des irradiations accidentelles.

15 20) Composition pharmaceutique ou cosmétique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention des effets induits par les rayons ultraviolets.

20 21) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD dans le traitement et/ou la prévention de l'hypertension.

25 30 22) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 21, caractérisée en ce que le polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP, seul ou en association avec de la SOD, est associé à un véhicule pharmaceutique sous une forme permettant l'administration per os, per cutanée, sous cutanée, topique, intramusculaire, intraveineuse ou intra artérielle ou dans tous les compartiments liquidiens de l'organisme.

35

5

23) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisée en ce que son dosage permet une administration de 0,001 à 1 milligramme de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par centimètre carré ou de 0,005 à 1 milligramme de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par centimètre cube de tissu à traiter.

10

24) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisée en ce qu'elle contient entre 0,01 et 10 milligramme de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par millilitre de solution physiologique de dissolution.

15

25) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisée en ce que son dosage permet une administration par voie systémique, intra-péritonéale, intra oculaire, dans le liquide céphalorachidien, dans le liquide intracochléaire ou dans tous fluides péri ou intra tissulaires, de 0,1 et 100 milligrammes de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par kilogramme de poids d'homme ou d'animal à traiter.

20

26) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisée en ce que son dosage permet une administration par voie intramusculaire, comprise entre 0,2 et 500 milligrammes de polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP par kilogramme de poids d'homme ou d'animal à traiter, et de préférence entre 1 et 50 mg par kg.

35

27) Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisée en ce que son dosage permet une administration per os comprise entre 1 et 5000 milligrammes de polymère par kilogramme

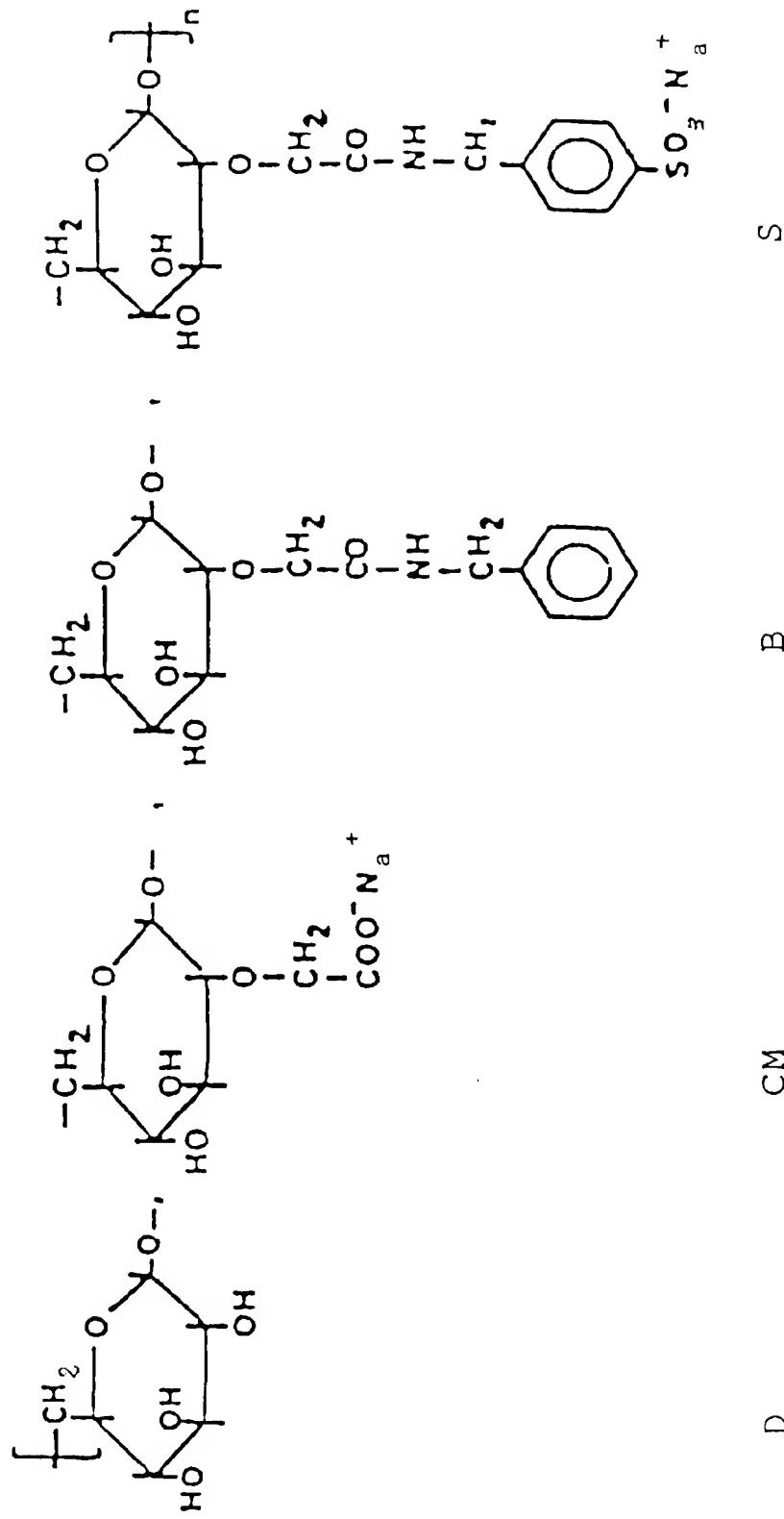
de poids d'homme ou d'animal à traiter, et de préférence entre 10 et 500 mg par kg.

5 28) Composition selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un polymère ou biopolymère de la famille des HBGFPP utilisable seul ou en association avec de la SOD pour la préservation d'aliments ou de nutriments contenant naturellement des antioxydants ou
10 auxquels ont été ajoutés des agents antioxydants comme la SOD.

15 29) Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 28, caractérisée en ce que la SOD est d'origine animale ou végétale, purifiée à partir d'une source naturelle ou produite par synthèse chimique ou par génie génétique.

1 / 5

Fig. 1



2/5

Fig.2

Conditions expérimentales	Activité de la SOD en unités arbitraires
SOD témoin à pH = 7	100
50 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 7	150
100 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 7	180
500 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 7	190
50 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 7	120
100 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 7	150
500 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 7	170
SOD témoin à pH = 3	20
50 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 3	40
100 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 3	100
500 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 3	130
50 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 3	50
100 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 3	120
500 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 3	140
SOD témoin à pH = 11	30
50 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 11	30
100 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 11	90
500 microg/mL de CMDBS 192 + SOD à pH = 11	130
50 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 11	40
100 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 11	80
500 microg/mL de CMDBS 282 + SOD à pH = 11	120

3/5

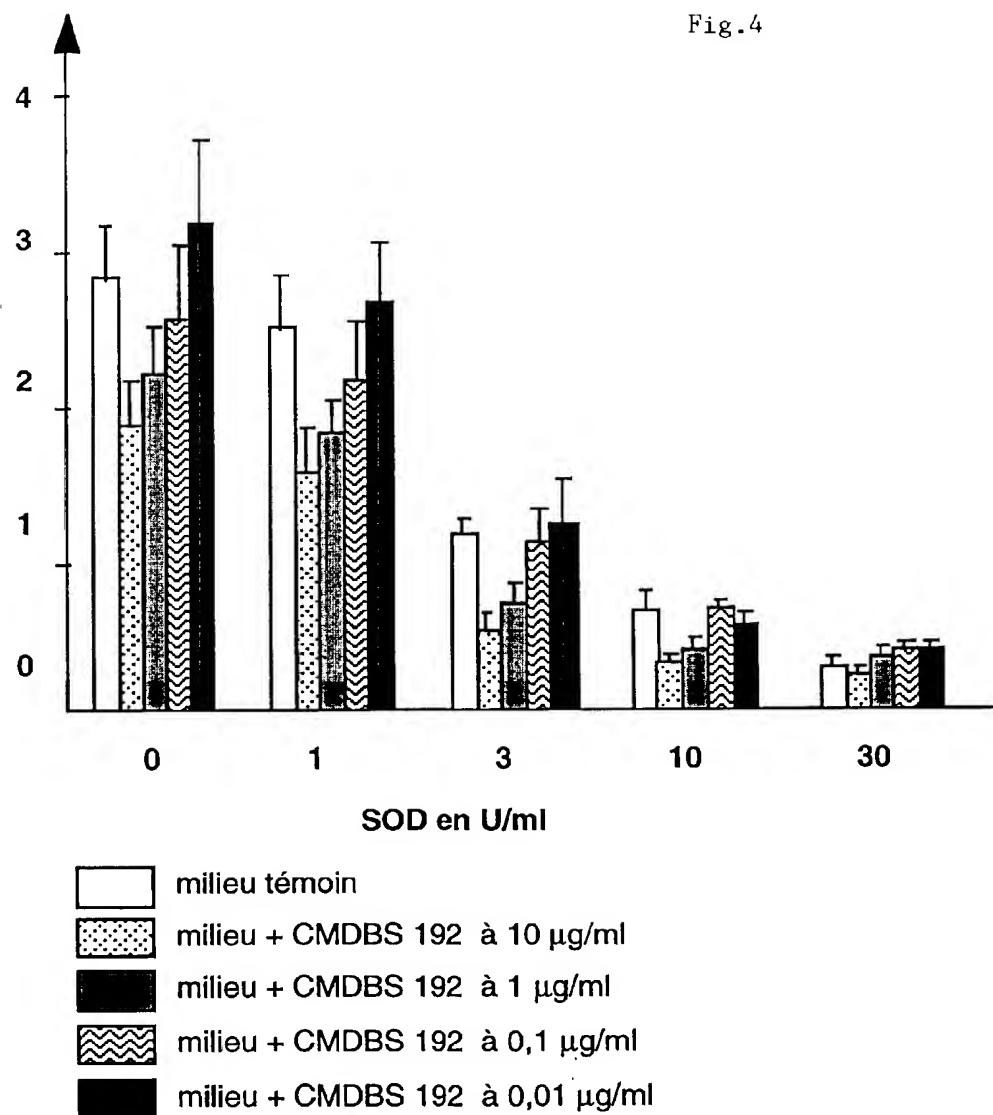
Fig.3

Polymères à 100 µg/ml	% d'activité résiduelle	
	SOD + Trypsine	SOD à 60 °C
Rien	0	0
Héparine	60	45
CMDBS 192	100	100
CMDBS 282	85	90

4/5

Production d'ions superoxyde
en mmol $\times 10^6$ cellules

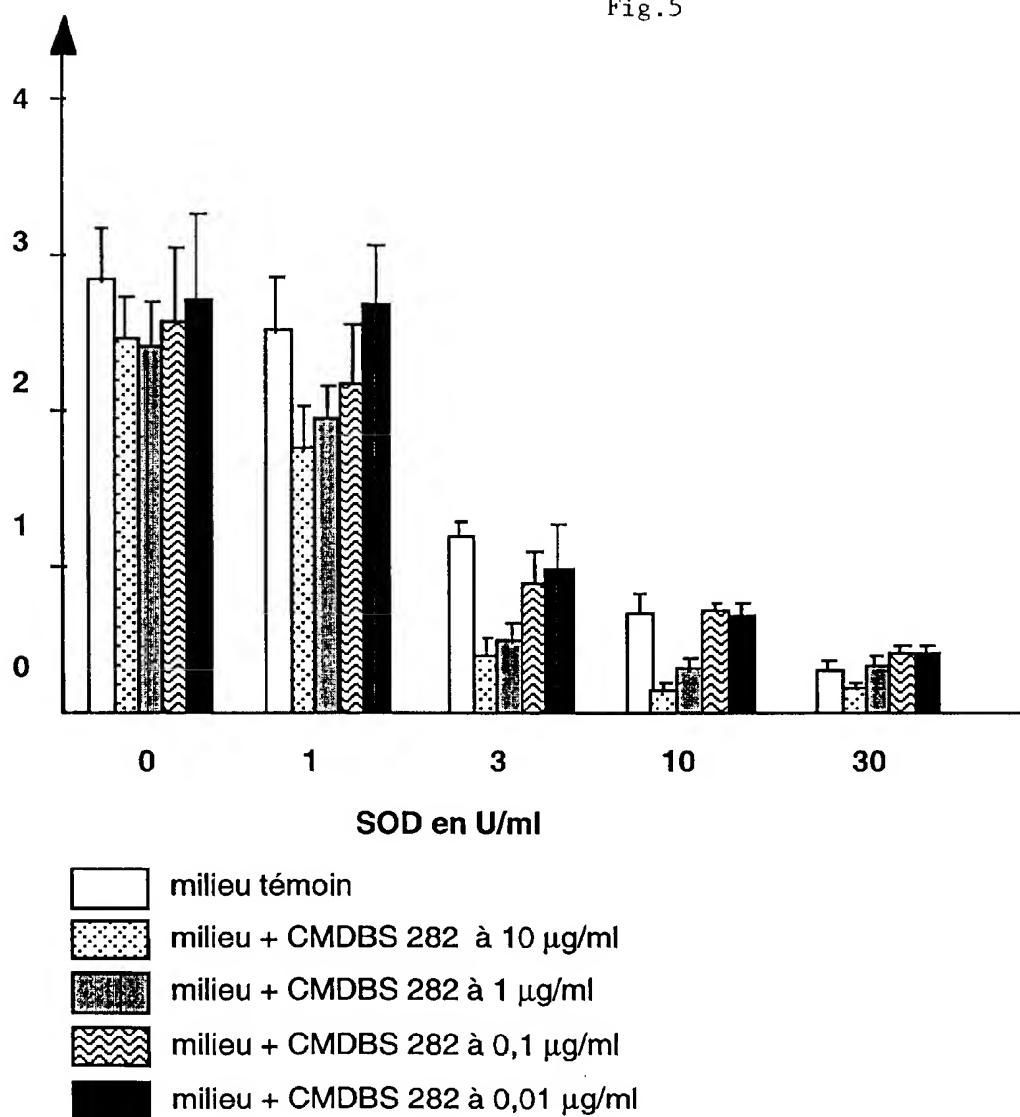
Fig.4



5/5

Production d'ions superoxyde
en mmol $\times 10^6$ cellules

Fig.5



INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 563841
FR 9809307

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D, X	FR 2 718 023 A (PARIS VAL MARNE UNIVERSITE) 6 octobre 1995 * le document en entier *	1, 3-29
D, X	FR 2 718 024 A (PARIS VAL MARNE UNIVERSITE) 6 octobre 1995 * le document en entier *	1, 3-29
D, X	FR 2 718 025 A (PARIS VAL MARNE UNIVERSITE) 6 octobre 1995 * le document en entier *	1, 3-29
X	FR 2 718 026 A (PARIS VAL MARNE UNIVERSITE) 6 octobre 1995 * le document en entier *	1, 3-29
DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)		
A61K		
1	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
	28 mai 1999	Orviz Diaz, P
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		